·论著·

甘草预防气管插管致呼吸道损伤的有效部位筛选

张杰[1,2,3]，丁声双[3]，郭敏[4]，薛阳[1,2]，徐紫清[1,2]，侯怀晶[1,2]，薛建军[1,2*]

【摘要】 **背景** 术后咽喉痛（POST）是全身麻醉后术后常见的轻微但令人不快的术后并发症之一。研究发现甘草能有效降低术后咽喉痛的发生率，但其有效部位尚不清楚。**目的** 筛选甘草预防气管插管致呼吸道损伤的有效部位。**方法** 2021年4月—2022年7月将60只SPF级Wistar大鼠依据随机数字表法分为空白组、气管插管组、利多卡因组、总多糖组、总皂苷组、总黄酮组，每组10只。除对照组外，其余组制备气管插管模型，插管前各治疗组按1mL/100 g（按体质量计）分别经口喷入1%利多卡因、总多糖、总皂苷、总黄酮，浸润悬雍垂及软腭周围组织，对照组和气管插管组经口喷入等体积0.9%氯化钠溶液。机械通气2 h后拔除气管导管，深麻醉下收集大鼠咽部黏膜组织和血液标本，分别取大鼠咽部黏膜组织，通过苏木精－伊红染色法（HE染色）和免疫组化（IHC）观察大鼠咽部黏膜病理变化和Toll样受体2（TLR2）、Toll样受体4（TLR4）表达水平；酶联免疫吸附测定法（ELISA）检测大鼠血清血清炎性因子〔血清肿瘤坏死因子－α（TNF-α）、白介素（TL）-2、IL-4、IL-10〕、氧化应激〔超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）、总抗氧化能力（T-AOC）〕及应激激素〔皮质醇（Cor）、肾上腺素（E）和去甲肾上腺素（NE）〕表达水平。**结果** HE染色显示气管插管组组可见黏膜脱落，黏膜下结构严重破坏并伴有大量炎性细胞浸润，总皂苷组大鼠咽部黏膜组织破坏较轻，炎性细胞明显减少。ELISA结果显示：与对照组相比，气管插管组大鼠血清中的TNF-α、IL-2水平增加，IL-4、IL-10水平降低（$P<0.05$）；与气管插管组相比，总皂苷组大鼠血清中TNF-α和IL-2水平降低，IL-4和IL-10水平增加（$P<0.05$）。与对照组相比，气管插管组大鼠血清中MDA水平增加，SOD和T-AOC水平下降（$P<0.05$）；与气管插管组相比，总皂苷组和总黄酮组大鼠血清中MDA水平降低，SOD和T-AOC水平升高（$P<0.05$）。与对照组相比，气管插管组大鼠血清Cor、E和NE水平升高（$P<0.05$）；与气管插管组相比，总皂苷组大鼠血清Cor、E和NE水平降低（$P<0.05$）。IHC结果显示：气管插管组大鼠咽部黏膜组织TLR2和TLR4表达的平均光密度（AOD）高于C组（$P<0.05$）。与气管插管组相比，总皂苷组大鼠咽部黏膜组织TLR4表达的AOD降低（$P<0.05$）。**结论** 甘草预防全身麻醉气管插管致呼吸道损伤的主要有效部位为总皂苷。

【关键词】 甘草；气管插管；麻醉；通气，机械；呼吸道损伤；有效部位；总皂苷

【中图分类号】 R 605.973 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0270

【引用本文】 张杰，丁声双，郭敏，等.甘草预防气管插管致呼吸道损伤的有效部位筛选［J］.中国全科医学，2023.［Epub ahead of print］.DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0270［www.chinagp.net］

ZHAGN J，DING S S，GUO M，et al. Effective fraction screening of glycyrrhiza radix on preventing respiratory tract injury induced by endotracheal intubation［J］. Chinese General Practice，2023.［Epub ahead of print］.

Effective Fraction Screening of Glycyrrhiza Radix on Preventing Respiratory Tract Injury Induced by Endotracheal Intubation

ZHANG Jie[1,2,3]，*DING Shengshuang*[3]，*GUO Min*[4]，*XUE Yang*[1,2]，*XU Ziqing*[1,2]，*HOU Huaijing*[1,2]，*XUE Jianjun*[1,2*]

1. Department of Anesthesiology，Gansu Provincial Hospital of TCM，Lanzhou 730050，China

2. Gansu Province Clinical Research Center for Integrative Anaesthesiology，Lanzhou 730050，China

3. The First Clinical Medical College，Gansu University of Chinese Medicine，Lanzhou 730000，China

4. Gansu Provincial Hospital of TCM，Lanzhou 730050，China;

Corresponding author：XUE Jianjun，Chief physician；E-mail：xjjfei419@126.com

【Abstract】 **Background** Postoperative sore throat （POST） is one of the common mild but unpleasant postoperative complications after general anaesthesia. There is evidence that Glycyrrhiza Radix can effectively reduce the incidence of POST，but its effective fraction remains unclear. **Objective** To screen the effective fraction of Glycyrrhiza Radix on preventing

基金项目：甘肃省科技计划资助项目－临床医学研究中心建设（20JR10RA435）；兰州市人才创新创业计划（2018-RC-93）

1.730050 甘肃省兰州市，甘肃省中医院麻醉科 2.730050 甘肃省兰州市，甘肃省中西医结合麻醉临床研究中心 3.730000 甘肃省兰州市，甘肃中医药大学第一临床医学院 4.730050 甘肃省兰州市，甘肃省中医院

*通信作者：薛建军，主任医师；E-mail：xjjfei419@126.com

本文数字出版日期：2023-7-4

respiratory tract injury induced by endotracheal intubation. **Methods** From April 2021 to July 2022，60 SPF-grade Wistar rats were randomized into the control group，endotracheal intubation group，lidocaine group，total polysaccharides group，total saponins group，total flavonoids group based on random number table method，with 10 rats in each group. The endotracheal intubation model was prepared for all groups except the control group. Before intubation，each treatment group was sprayed with a solution consisting of 1% lidocaine，total polysaccharides，total saponins，and total flavonoids at 1 mL/100 g（by body weight）to permeate the uvula and peri-soft palate tissue of rats，respectively. The control and endotracheal intubation groups were sprayed with an equal volume of 0.9% saline. After 2 hours of mechanical ventilation，the endotracheal tube was removed，and the pharyngeal mucosa tissues and blood samples of rats were collected under deep anesthesia. Pathological changes of rat pharyngeal mucosa and the expression levels of Toll-like receptor 2 （TLR2） and Toll-like receptor 4 （TLR4） were observed by hematoxylin-eosin staining （HE staining） and immunohistochemistry （IHC）; the expression levels of inflammatory cytokines including serum tumor necrosis factor-α （TNF-α），interleukin-2（IL-2），interleukin-4（IL-4），interleukin-10（IL-10），superoxide dismutase（SOD），malondialdehyde（MDA），total antioxidant capacity（T-AOC），and stress hormones including cortisol（Cor），epinephrine （E），and norepinephrine（NE） were measured by enzyme-linked immunosorbent assay （ELISA）. **Results** HE staining showed mucosal shedding and severe damage of submucosal structure accompanied by a large number of inflammatory cells infiltrated in the endotracheal intubation group; while milder damage of mucosal structure and less inflammatory cells were significantly reduced in the total saponins group. ELISA results showed that compared with the control group，the levels of TNF-α and IL-2 in the serum of rats increased significantly，and the levels of IL-4 and IL-10 decreased significantly in the endotracheal intubation group （$P<0.05$）; compared with the endotracheal intubation group，the serum levels of TNF-α and IL-2 decreased，and the levels of IL-4 and IL-10 increased in the total saponins group（$P<0.05$）. Compared with the control group，the MDA level in the serum of rats was significantly increased，and the SOD and T-AOC levels were significantly decreased in the endotracheal intubation group（$P<0.05$）; compared with the endotracheal intubation group，the MDA level decreased and the levels of SOD and T-AOC increased in the total saponins and flavonoids groups（$P<0.05$）. Compared with the control group，serum Cor，E，and NE levels significantly increased in the endotracheal intubation group （$P<0.05$）; compared with the tracheal intubation group，serum Cor，E and NE levels were decreased in the total saponins group rats （$P<0.05$）. The IHC results showed that the average optical density （AOD） expressed by TLR2 and TLR4 in the endotracheal intubation group was higher than the control group（$P<0.05$）. The AOD expressed by TLR4 in the pharyngeal mucosal tissue of rats in the total saponins group was significantly lower than that of the endotracheal intubation group（$P<0.05$）. **Conclusion** Total saponin is the main effective fraction of Glycyrrhiza Radix for the prevention of respiratory tract injury caused by endotracheal intubation under general anesthesia.

【Key words】 Glycyrrhiza uralensis；Endotracheal intubation；Anesthesia；Ventilation，mechanical；Respiratory tract injury；Effective fraction

气管插管术是全身麻醉过程中最重要、最安全的呼吸支持方式。但由于其属于侵入性操作，可引起多种并发症。术后咽喉痛（POST）是全身麻醉后术后常见的轻微但令人不快的术后并发症之一，发病率高达62%[1]。POST 会使患者术后的不适感增加、住院时间延长，严重影响了患者满意度和术后恢复质量[2-3]。此外，由于多数 POST 具有自愈性，易被临床医师忽视，为医患纠纷埋下了隐患。随着全身麻醉气管插管手术患者日趋增多和加速康复外科（ERAS）的快速发展，POST 的防治受到广大麻醉医师的关注。最近一项网状 Meta 分析[4]比较了 6 种外用药物预防气管插管 POST 的疗效，结果发现利多卡因并不是预防 POST 的最佳外用药物，建议根据临床经验和患者的喜好选择甘草甜素、皮质类固醇、非甾体抗炎药或 N- 甲基 -D- 门冬氨酸（NMDA）受体拮抗剂用于减轻 POST。目前，针对 POST 的干预措施多以术前预防为主，具有一定的缓解作用，但 POST 发生率仍然较高[5]。因此，寻找具有疗效确切且不良反应小的临床干预方法已成为研究热点。

甘草来源于豆科植物甘草、胀果甘草或光果甘草的干燥根和根茎[6]，主要包括三萜皂苷类化合物、黄酮类化合物和多糖类化合物等[7]，具有抗炎、免疫调节、抗氧化等多种功效[8]，是临床最常用的中药之一。本课题组前期研究[9]发现甘草喷剂能能明显减轻大鼠气管黏膜水肿渗出和炎细胞浸润，降低大鼠气管插管后血清促炎因子肿瘤坏死因子（TNF）-α、白介素（IL）-1 的表达水平。此外，通过临床研究发现甘草喷雾剂可减轻全麻气管插管应激反应和 POST 的发生率[10]，同时基于循证医学的证据显示甘草制剂局部应用能有效预防气管插管后的咽喉痛[11]，但目前尚无针对甘草具体有效部位防治插管后气道损伤或咽喉痛的研究。因此，本

研究通过建立全麻气管插管大鼠模型，分离提取甘草总皂苷、总黄酮和总多糖等部位，分别考察上述部位对气管插管术后大鼠呼吸道黏膜病理形态学及大鼠血清炎性因子、氧化应激与应激激素水平的影响，从而筛选甘草预防气管插管致呼吸道损伤的有效部位，从中医药角度为防治全麻气管插管致呼吸道损伤提供新思路。

1 资料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 Wistar 大鼠 60 只，6~8 周龄，雌雄各半，体质量（200±20）g，购于甘肃中医药大学实验动物中心（合格证号 62001000000591）。所有动物操作获得甘肃中医药大学动物实验伦理委员会审查（伦理审批编号：2020-233），并根据国际疼痛研究协会的动物实验指南进行。

1.2 实验仪器与试剂 DH-140 型小动物呼吸机（深圳市瑞沃德生命科技有限公司），高速冷冻离心机（5424R，德国 Eppendorf），病理切片机（RM2016，德国徕卡），组织摊片机（KD-P，郑州博邦仪器有限公司），显微拍照系统（ICX41，宁波舜宇光学科技有限公司），酶标仪（ELX800，美国 Bio Rad 公司）。

异氟醚购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司，丙二醛（MDA）、总抗氧化能力（T-AOC）、超氧化物歧化酶（SOD）试剂盒购于南京建成科技有限公司，试剂盒 TNF-α、IL-2、IL-4、IL-10、皮质醇（Cor）、肾上腺素（E）和去甲肾上腺素（NE）购于江苏酶免实业有限公司。

1.3 甘草提取物的制备 甘草购于甘肃数字本草检验中心有限公司，并经该公司鉴定为甘草根和茎。将甘草饮片粉碎，过 60 目筛；称取甘草粉末三份，每份约 10.0 g，加水 200 mL，超声提取 1 h，离心（3 000 r/min，5 min），取上清液，醇沉（80% 乙醇、9 h），离心，取上清液，水浴浓缩至约 50 mL，得总多糖（TP）；加 75% 乙醇 200 mL，超声提取 1h，过滤，滤液用 AB-8 大孔吸附树脂纯化，80% 乙醇洗脱，洗脱液浓缩至约 50 mL，得总黄酮；加 75% 乙醇 200 mL，回流提取 90 min，过滤，滤液用 HPD-300 大孔吸附树脂纯化，50% 乙醇洗脱，洗脱液浓缩至约 50 mL，得总皂苷（TS）。

1.4 研究方法

1.4.1 动物分组及处理 本研究于 2021 年 4 月—2022 年 7 月进行。将 60 只 SPF 级 Wistar 大鼠按随机数字表法分为 6 组：对照组、气管插管组、利多卡因组、总多糖组、总皂苷组、总黄酮组。除对照组外，其余五组采用 1% 戊巴比妥钠麻醉，制备气管插管模型。插管前各治疗组按 1 mL/100 g（按体质量计）分别经口喷入 1% 利多卡因、总多糖、总皂苷、总黄酮，浸润软腭及悬雍垂周围组织。对照组和气管插管组经口喷入等体积 0.9% 氯化钠溶液。

1.4.2 模型制备 参照文献[8]建立气管插管大鼠模型。模型建立：将大鼠用 1% 戊巴比妥钠溶液（50 mg/kg）腹腔注射麻醉后，3~5 min 后可大鼠意识消失，全身肌肉松弛。将麻醉后的大鼠仰卧固定于手术板上，把固定的大鼠同手术台一起倾斜约 45°（大鼠头朝上），用手术钳将大鼠舌头小心拉出口腔，左手持大鼠喉镜，右手持自制气管导管（16G 血管穿刺针），趁大鼠吸气时声门打开瞬间将自制气管导管插入气道，用棉签确认气管导管的位置，然后连接呼吸机。参数设置：频率 80 次 /min，潮气量 5~10 mL，吸呼比为 1∶1.5。麻醉维持：持续吸入 1.3% 异氟醚，机械通气期间观察大鼠状态，包括大鼠胸廓起伏频率与程度、口唇黏膜是否红润、有无异动等，若发现异常，及时检查呼吸回路。麻醉苏醒：机械通气 2 h 后停止异氟醚吸入，待大鼠完全清醒后拔除气管导管，将其放回鼠笼待解剖。

1.4.3 苏木精 - 伊红（HE）染色 气管导管拔除 2 h 后，在戊巴比妥钠深麻醉（80 mg/kg）状态下，采集大鼠咽部黏膜组织，用 4% 多聚甲醛固定，观察病理。将标本脱水，石蜡包埋，制作 5 μm 厚切片，用 HE 染色，并采用宁波舜宇 ICX41 显微镜拍照系统进行观察、拍照。

1.4.4 酶联免疫吸附（ELISA）测定 拔除气管导管 2 h 后，在戊巴比妥钠深麻醉（80 mg/kg）状态下，从腹主动脉采集血液样本，在 3 500 r/min 条件下离心 10 min，收集血清并保存在 -80 ℃。冰箱备用。按照 ELISA 试剂盒说明书检测炎性因子（TNF-α、IL-2、IL-4、IL-10）、氧化应激指标（MDA、T-AOC、SOD）及应激激素（Cor、E、NE）水平。

1.4.5 免疫组化检测 Toll 样受体 2（TLR2）和 Toll 样受体 4（TLR4）表达水平 将制备好的咽部黏膜组织石蜡切片用二甲苯脱蜡，然后依次加入高至低浓度乙醇使组织再水化，加入抗原修复液，然后用 3% H_2O_2 消除过氧化物酶，然后用牛血清密封。经一抗和二抗孵育后，进行脱蜡洗涤，抗原修复，加入 DAB 显色，脱水密封后使用显微拍照系统观察和拍照。通过 Image-Pro Plus 6.0 软件计算各视野 TLR2 和 TLR4 平均光密度值（AOD），以 AOD=IOD/Area（即 intDen/Area）表示。

1.5 统计分析 采用 SPSS 22.0 软件（IBM 公司，阿蒙克市，美国）进行统计分析，使用 GraphPad Prism 9.0 软件作图。计量数据以（$\bar{x}\pm s$）表示。当方差齐检验没有呈现出显著性（α=0.05）时，采用单因素方差分析和 Tukey 事后检验来评估多重比较。反之，采用 Dunnett's T3 进行组间分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 甘草不同部位对大鼠咽部黏膜组织病理病理变化的影响 对照组黏膜层和黏膜下层结构完整，细胞形态

结构正常，未见炎性细胞浸润现象。气管插管组可见黏膜脱落，黏膜下结构严重破坏并伴有大量炎性细胞浸润。与气管插管组相比，利多卡因组黏膜层及黏膜下层结构破坏较轻，可见大量炎性细胞浸润；总多糖组和总黄酮组黏膜及黏膜下层结构相对完整，炎性细胞浸润相对减少；总皂苷组黏膜及黏膜下层结构基本完整，细胞形态接近正常，可见散在的炎性细胞，见图 1。

2.2 甘草不同部位对大鼠血清炎性因子的影响 6 组大鼠血清炎性因子 TNF-α、IL-2、IL-4、IL-10 水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与对照组相比，气管插管组大鼠血清中的 TNF-α、IL-2 水平增加，IL-4、IL-10 水平降低，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与气管插管组相比，总皂苷组大鼠血清 TNF-α 和 IL-2 水平下降，IL-4 和 IL-10 水平增加，差异有统计学意义（$P<0.05$）；利多卡因组和总黄酮组大鼠血清 TNF-α 水平低于气管插管组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 1。

2.3 甘草不同部位对氧化应激的影响 6 组大鼠血清氧化应激指标 MDA、SOD、T-AOC 水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。与对照组相比，气管插管组大鼠血清中的 MDA 水平增加，SOD 和 T-AOC 水平下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）。利多卡因组和总多糖组大鼠血清 MDA、SOD、T-AOC 水平与对照组差异无统计学意义（$P>0.05$）。与气管插管组相比，总皂苷组和总黄酮组大鼠血清 MDA 水平下降，SOD 和 T-AOC 水平升高，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

2.4 甘草不同部位对应激激素水平的影响 6 组大鼠血清应激激素 Cor、E、NE 水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。气管插管组大鼠血清 Cor、E 和 NE 水平高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。利多卡因组和总皂苷组大鼠血清中 Cor、E 和 NE 水平低于气管插管组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。总多糖组和总黄酮组大鼠血清 Cor、E 和 NE 水平与气管插管组相比差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 3。

2.5 甘草不同部位对 TLR2 和 TLR4 表达的影响 6 组大鼠咽部黏膜组织 TLR2、TLR4 蛋白表达水平比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。气管插管组 TLR2 和 TLR4 表达的 AOD 高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）。利多卡因组、总多糖组、总皂苷组和总黄酮组大鼠咽部

表 1 6 组大鼠血清炎性因子的比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 1 Comparison of serum inflammatory factors among 6 groups

组别	只数	TNF-α（μg/L）	IL-2（μg/L）	IL-4（ng/L）	IL-10（ng/L）
对照组	10	0.35 ± 0.06	1.11 ± 0.10	111.40 ± 10.09	115.72 ± 7.83
气管插管组	10	0.81 ± 0.09[a]	1.72 ± 0.15[a]	66.75 ± 11.43[a]	67.93 ± 8.76[a]
利多卡因组	10	0.69 ± 0.08[b]	1.60 ± 0.09	81.76 ± 16.39	80.35 ± 11.93
总多糖组	10	0.72 ± 0.09	1.62 ± 0.08	85.82 ± 12.00[b]	78.77 ± 13.35
总皂苷组	10	0.50 ± 0.05[b]	1.43 ± 0.10[b]	98.09 ± 18.49[b]	94.71 ± 9.74[b]
总黄酮组	10	0.69 ± 0.11[b]	1.64 ± 0.09	82.72 ± 15.45	81.51 ± 9.01
F 值		42.93	44.20	11.47	27.74
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注：TNF-α = 肿瘤坏死因子 α，IL= 白介素；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与气管插管组比较 $P<0.05$。

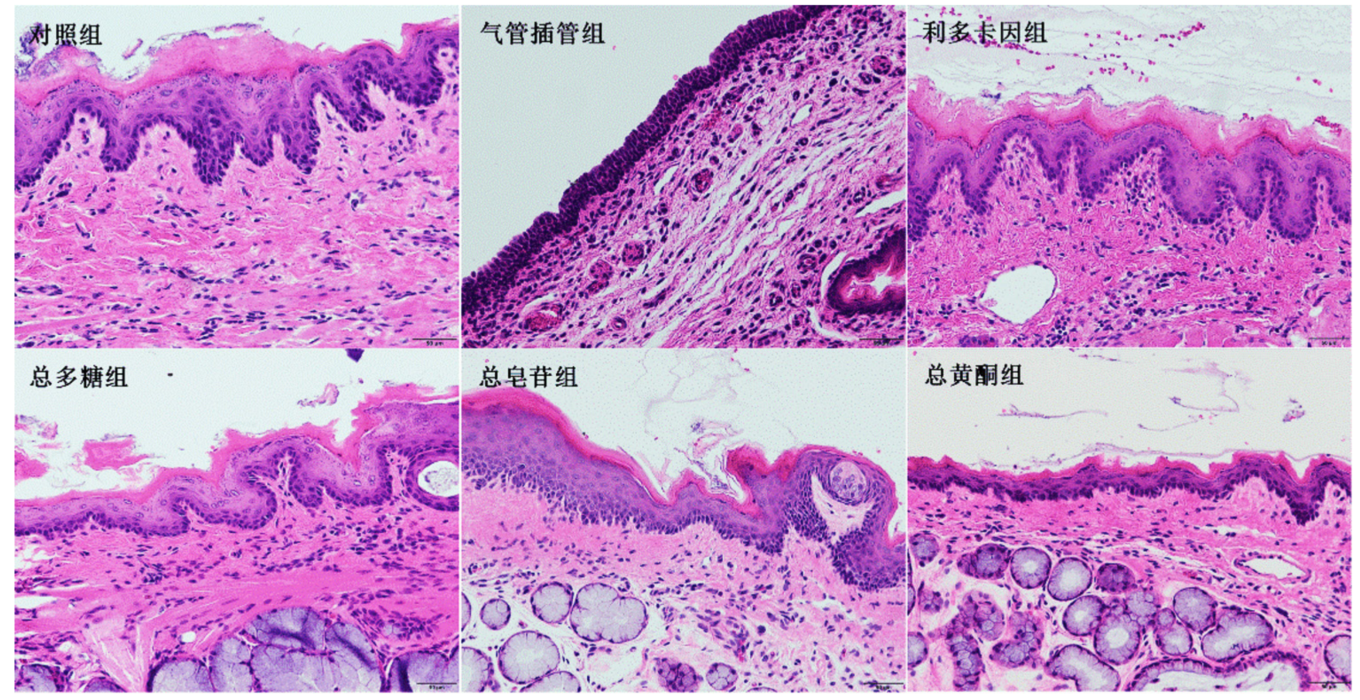


图 1 6 组大鼠咽部黏膜病理变化（HE 染色，×200）

Figure 1 Pathological changes of pharyngeal mucosa among 6 groups

表 2 6 组大鼠血清氧化应激水平的比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Comparison of serum oxidative stress level among 6 groups

组别	只数	MDA（nmoL/L）	T-AOC（U/mL）	SOD（U/mL）
对照组	10	1.90 ± 0.19	17.22 ± 1.54	7.10 ± 0.88
气管插管组	10	2.94 ± 0.23[a]	9.68 ± 1.14[a]	4.38 ± 0.73[a]
利多卡因组	10	2.75 ± 0.19	11.21 ± 1.93	5.24 ± 0.74
总多糖组	10	2.68 ± 0.18	10.96 ± 1.99	4.75 ± 0.76
总皂苷组	10	2.21 ± 0.23[b]	15.50 ± 1.56[b]	6.03 ± 0.95[b]
总黄酮组	10	2.62 ± 0.18[b]	12.34 ± 1.56[b]	5.45 ± 0.65[b]
F 值		37.57	31.50	15.15
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注：MDA=丙二醛，T-AOC=总抗氧化能力；SOD=超氧化物歧化酶；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与气管插管组比较 $P<0.05$。

表 3 6 组大鼠血清应激激素水平的比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Comparison of serum stress hormone level among 6 groups

组别	只数	Cor（μg/mL）	NE（ng/L）	E（pg/mL）
对照组	10	100.28 ± 7.80	140.66 ± 13.01	135.97 ± 11.52
气管插管组	10	157.40 ± 11.11[a]	206.16 ± 18.84[a]	201.53 ± 10.40[a]
利多卡因组	10	141.11 ± 8.04[b]	187.01 ± 13.36[b]	187.93 ± 11.98[b]
总多糖组	10	145.33 ± 17.77	192.14 ± 8.97	192.98 ± 9.19
总皂苷组	10	130.15 ± 10.06[b]	164.54 ± 14.09[b]	162.10 ± 5.92[b]
总黄酮组	10	143.70 ± 8.67	192.48 ± 16.28	190.42 ± 6.77
F 值		31.42	27.16	15.15
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注：Cor= 皮质醇，NE= 去甲肾上腺素，E= 肾上腺素；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与气管插管组比较 $P<0.05$。

组织 TLR2 表达的 AOD 与气管插管组相比，差异无统计学意义（$P>0.05$）。总皂苷组大鼠咽部组织 TLR4 表达的 AOD 明显低于气管插管组（$P<0.05$），而利多卡因组、总多糖组和总黄酮组大鼠咽部组织 TLR4 表达的 AOD 与气管插管组相比，差异无统计学意义（$P>0.05$），见图 2、表 4。

3 讨论

在接受全身麻醉的患者中，气管内插管对于保持气道通畅至关重要，在临床上应用广泛，其侵入性操作带来的机械刺激易引起咽喉部黏膜屏障破坏，诱发机体出现炎性反应、应激反应等，从而引起咽喉部疼痛及咳嗽等呼吸道并发症。虽然可以通过选择较小类型的气管插管，使用适当的气管导管套囊压力[12]，静脉注射或局部应用利多卡因[13]，包括利多卡因碱化气管导管套囊，以及类固醇等抗炎药[4]降低 POST 的发生率，但上述所有措施都不令人满意。此外，喉镜的放置通常伴有严重的交感神经刺激，这对心血管疾病患者极为危险。已经设计了许多技术来寻找减少围手术期应激反应发生的可能方法，例如对喉黏膜进行局部麻醉、静脉给予局麻药、短效阿片类药物或 β-肾上腺素能拮抗剂[14]。然而，这些方法无法有效抑制应激反应。近年来，中医药技术广泛应用于气管插管呼吸道并发症的防治。现代药理学研究表明，甘草具有补脾益气、清热解毒、抗炎、抗氧化、调节免疫等药理作用[15-18]，广泛应用于呼吸系统疾病。

以往研究表明，气管导管与人或猪的气管黏膜接触导致机械性损伤，表现为咽喉痛（人）、气管炎、中性粒细胞活化[19-21]，同时弹性蛋白酶、活性氧（ROS）、IL-1β、TNF-α 和细胞间粘附分子 -1 表达增加[21]。

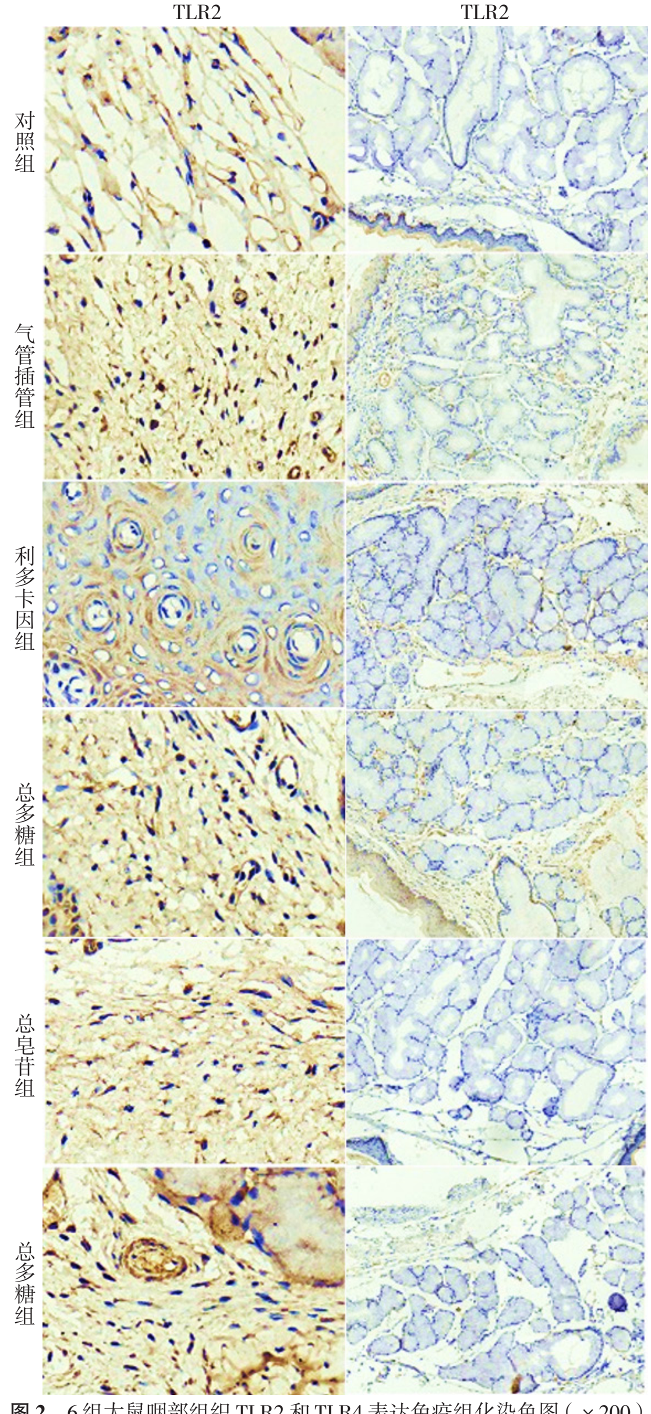


图 2 6 组大鼠咽部组织 TLR2 和 TLR4 表达免疫组化染色图（×200）

Figure 2 Immunohistochemical staining of TLR2 and TLR4 expression in pharyngeal tissues among 6 groups

表 4 6 组大鼠咽部组织 TLR2、TLR4 蛋白表达 AOD 比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 4 Comparison of AOD expressed by TLR2 and TLR4 protein in the pharyngeal tissues among 6 groups

组别	只数	TLR2	TLR4
对照组	6	0.048 ± 0.005	0.049 ± 0.010
气管插管组	6	0.093 ± 0.017[a]	0.081 ± 0.009[a]
利多卡因组	6	0.084 ± 0.012	0.075 ± 0.004
总多糖组	6	0.090 ± 0.013	0.074 ± 0.007
总皂苷组	6	0.084 ± 0.010	0.056 ± 0.006[b]
总黄酮组	6	0.086 ± 0.010	0.071 ± 0.011
F 值		11.49	13.95
P 值		<0.05	<0.05

注：TLR=Toll 样受体；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与气管插管组比较 $P<0.05$。

甘草的抗炎活性及其在炎症性疾病中的应用自古以来就有记载[22]。大量学者认为甘草的抗炎作用主要由皂苷类和黄酮类化合物介导[23]，甘草中的三萜皂苷类化合物是其具有特异性标志的成分，其中甘草酸和甘草次酸是甘草根的主要成分[23]，二者在药理学上表现出相似的特征。KAGEYAMA 等[24]认为甘草酸的抗炎作用与糖皮质激素和盐皮质激素相似。黄酮类化合物是甘草中仅次于三萜皂苷类的第二大化合物。甘草类黄酮显示出良好的抗炎作用，在肺炎、肝炎、溃疡性结肠炎、胃炎和其他炎症性疾病中显示出治疗效果[25]。本研究发现气管插管组大鼠咽部黏膜脱落，黏膜下层结构破坏严重并伴有大量炎性细胞浸润，血清中促炎因子 TNF-α 和 IL-2 水平显著升高，抗炎因子 IL-4 和 IL-10 水平降低。总皂苷组大鼠咽部黏膜结构破坏减轻，炎性细胞浸润减少。大鼠血清中促炎因子 TNF-α 和 IL-2 水平下降，抗炎因子 IL-4 和 IL-10 水平升高。这些结果提示总皂苷部位对气管插管引起的气道损伤和炎性反应有一定的抑制作用，这一结果与梁等[9]研究结果一致。

甘草的抗氧化活性是其广泛使用的主要原因之一。三萜皂苷类化合物甘草酸的抗辐射、神经保护、抑制线粒体通透性变化、防缺血再灌注损伤及缓解肝损伤等多种活性与其清除自由基、对抗氧化应激的作用密切相关[23]。有学者将甘草的抗氧化活性归因于黄酮类化合物[26]。MDA 是一种能间接反映机体 ROS 代谢状态和对组织的氧化损伤程度的脂质过氧化反应的中间产物[27]，也是机体发生氧化应激的重要标志；SOD 作为抗氧化剂，能减少活性氧在体内的积聚，减少 MDA 的产生[28]，从而减轻氧化应激损伤；T-AOC 可反映机体内总体的抗氧化水平[29]。本研究发现：气管插管组大鼠血清中 MDA 水平明显增加，SOD 和 T-AOC 水平明显下降。给予甘草提取物预处理后，发现总皂苷组和总黄酮组 MDA 水平降低，SOD 和 T-AOC 水平升高，表明总皂苷和总黄酮部位对气管插管引起的氧化应激损伤均有一定的抑制作用，这一研究结果与王等[30]研究一致。

气管插管等应激反应促使交感—肾上腺髓质和下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴兴奋为主的一系列神经内分泌反应，促使机体儿茶酚胺和糖皮质激素分泌增加[31]。因此，血浆中 Cor、E 和 NE 浓度能够评估应激反应的程度。杨等[10]通过临床研究发现甘草喷雾剂能降低气管拔管后 24 h 内血清 E 和 NE 水平。本研究发现利多卡因组和总皂苷组大鼠血清中 Cor、E 和 NE 水平较气管插管组显著降低，表明甘草抑制气管插管时的应激反应可能与总皂苷相关。

TLR 是参与非特异性反应的蛋白分子[32]，Toll 样受体有多重亚型，其中 TLR4 被认为是无菌炎症的主要介质[33]，促进炎症因子的合成和释放是其主要的生物学功能。有研究表明，促炎介质 HMGB1 在细胞外与 TLR 结合，进而激活 NF-κB 通路，诱导氧化应激反应，加剧炎性因子释放[34]，从而介导组织伤过程。本研究结果发现，气管插管组 TLR2 和 TLR4 表达的 AOD 高于对照组，表明气管插管诱导的气道损伤可以激活 TLR2 和 TLR4 蛋白表达。总皂苷组大鼠咽部组织 TLR4 表达的 AOD 明显低于气管插管组，提示 TLR4 在甘草预防全麻气管插管所致的呼吸道损伤中发挥重要作用。

综上，本研究首次将甘草分离提取成总多糖、总黄酮和总皂苷等部位，通过观察甘草不同部位对大鼠气管插管模型咽部组织病理形态学、炎性因子、氧化应激、应激激素和 Toll 样受体等相关指标的影响，分别考察甘草不同部位对气管插管引起的气道损伤的作用。结果表明总皂苷部位可通过减轻炎性反应、氧化应激和抑制 TLR4 表达改善气管插管大鼠呼吸道损伤，故初步确定甘草预防全身麻醉气管插管呼吸道损伤的有效部位为总皂苷。

作者贡献：张杰和薛建军构思并设计了实验，指导本课题实施与修改稿件；张杰、丁声双、郭敏、薛阳负责实验实施和血清学指标检测，张杰和郭敏撰写了初稿。丁声双和徐紫清进行 HE 染色和免疫组化；丁声双和侯怀晶统计分析数据并绘图；所有作者审阅并批准了最终稿件。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] HEWS J，EL-BOGHDADLY K，AHMAD I. Difficult airway management for the anaesthetist[J]. Br J Hosp Med，2019，80(8)：432-440. DOI：10.12968/hmed.2019.80.8.432.

[2] LEE J Y，SIM W S，KIM E S，et al. Incidence and risk factors of postoperative sore throat after endotracheal intubation in Korean patients[J]. J Int Med Res，2017，45(2)：744-752. DOI：10.1177/0300060516687227.

[3] LEHMANN M，MONTE K，BARACH P，et al. Postoperative

patient complaints: a prospective interview study of 12, 276 patients [J]. J Clin Anesth, 2010, 22 (1): 13-21. DOI: 10.1016/j.jclinane.2009.02.015.

[4] WANG G, QI Y, WU L N, et al. Comparative efficacy of 6 topical pharmacological agents for preventive interventions of postoperative sore throat after tracheal intubation: a systematic review and network meta-analysis [J]. Anesth Analg, 2021, 133 (1): 58-67. DOI: 10.1213/ANE.0000000000005521.

[5] 王月帆，巩博深，冯拓，等. 全身麻醉气管插管术后咽喉痛治疗的研究进展[J]. 西南军医，2019，21(5)：424-427. DOI：10.3969/j.issn.1672-7193.2019.03.008.

[6] WANG C C, CHEN L H, XU C Q, et al. A comprehensive review for phytochemical, pharmacological, and biosynthesis studies on Glycyrrhiza spp [J]. Am J Chin Med, 2020, 48 (1): 17-45. DOI: 10.1142/S0192415X20500020.

[7] NAZARI S, RAMESHRAD M, HOSSEINZADEH H. Toxicological effects of Glycyrrhiza glabra (licorice): a review [J]. Phytother Res, 2017, 31 (11): 1635-1650. DOI: 10.1002/ptr.5893.

[8] BISHT D, RASHID M, ARYA R K K, et al. Revisiting liquorice (Glycyrrhiza glabra L.) as anti-inflammatory, antivirals and immunomodulators: potential pharmacological applications with mechanistic insight [J]. Phytomed Plus, 2022, 2 (1): 100206. DOI: 10.1016/j.phyplu.2021.100206.

[9] 梁曦，薛建军. 甘草喷雾剂对大鼠全麻气管插管后呼吸道黏膜及细胞因子的影响[J]. 西部中医药，2017，30(2)：16-19.

[10] 杨开银，薛建军，梁曦，等. 甘草喷雾剂预防全麻气管插管应激反应及术后并发症临床观察[J]. 西部中医药，2021，34(9)：103-107. DOI：10.12174/j.issn.2096-9600.2021.09.28.

[11] KURIYAMA A, MAEDA H. Topical application of licorice for prevention of postoperative sore throat in adults: a systematic review and meta-analysis [J]. J Clin Anesth, 2019, 54: 25-32. DOI: 10.1016/j.jclinane.2018.10.025.

[12] EL-BOGHDADLY K, BAILEY C R, WILES M D. Postoperative sore throat: a systematic review [J]. Anaesthesia, 2016, 71 (6): 706-717. DOI: 10.1111/anae.13438.

[13] LI H, YUE Y, QU Y, et al. Lidocaine for postoperative sore throat: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Minerva Anestesiol, 2020, 86 (5): 546-553. DOI: 10.23736/S0375-9393.20.14170-1.

[14] DOLEMAN B, SHERWIN M, LUND J N, et al. Gabapentin for the hemodynamic response to intubation: systematic review and meta-analysis [J]. J Can D'anesthesie, 2016, 63 (9): 1042-1058. DOI: 10.1007/s12630-016-0668-0.

[15] RICHARD S A. Exploring the pivotal immunomodulatory and anti-inflammatory potentials of glycyrrhizic and glycyrrhetinic acids [J]. Mediators Inflamm, 2021, 2021: 6699560. DOI: 10.1155/2021/6699560. [

[16] DOGAN M F, PARLAR A, CAM S A, et al. Glabridin attenuates airway inflammation and hyperresponsiveness in a mice model of ovalbumin-induced asthma [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2020, 63: 101936. DOI: 10.1016/j.pupt.2020.101936.

[17] WAHAB S, ANNADURAI S, ABULLAIS S S, et al. Glycyrrhiza glabra (licorice): a comprehensive review on its phytochemistry, biological activities, clinical evidence and toxicology [J]. Plants, 2021, 10 (12): 2751. DOI: 10.3390/plants10122751.

[18] WAHAB S, AHMAD I, IRFAN S, et al. Pharmacological efficacy and safety of Glycyrrhiza glabra in the treatment of respiratory tract infections [J]. Mini Rev Med Chem, 2022, 22 (11): 1476-1494. DOI: 10.2174/1389557521666210927153001.

[19] PUYO C A, DAHMS T E. Innate immunity mediating inflammation secondary to endotracheal intubation [J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2012, 138 (9): 854-858. DOI: 10.1001/archoto.2012.1746.

[20] PUYO C A, EARHART A, STATEN N, et al. Endotracheal intubation results in acute tracheal damage induced by mtDNA/TLR9/NF-κB activity [J]. J Leukoc Biol, 2019, 105 (3): 577-587. DOI: 10.1002/JLB.5A0718-254RR.

[21] PUYO C A, TRICOMI S M, DAHMS T E. Early biochemical markers of inflammation in a swine model of endotracheal intubation [J]. Anesthesiology, 2008, 109 (1): 88-94. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3181788222.

[22] YANG R, YUAN B C, MA Y S, et al. The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb [J]. Pharm Biol, 2017, 55 (1): 5-18. DOI: 10.1080/13880209.2016.1225775.

[23] 肖先，李春燕，刘晓龙，等. 甘草的主要化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报，2023，40(3)：280-285. DOI：10.7683/xxyxyxb.2023.03.016.

[24] KAGEYAMA Y, SUZUKI H, SARUTA T. Role of glucocorticoid in the development of glycyrrhizin-induced hypertension [J]. Clin Exp Hypertens, 1994, 16 (6): 761-778. DOI: 10.3109/10641969409078024.

[25] 戴应和，龙小琴，张娟，等. 甘草黄酮的抗炎作用及其机制的研究进展[J]. 江西中医药，2017，48(2)：68-71.

[26] 何磊，裴宏岩，曾建宁，等. 甘草茎叶黄酮提取工艺优化及其抗氧化损伤作用研究[J/OL]. 吉林农业大学学报：1-12[2023-06-25]. DOI：10.13327/j.jjlau.2021.1561.

[27] HE M H, PAN H, CHANG R C, et al. Activation of the Nrf2/HO-1 antioxidant pathway contributes to the protective effects of Lycium barbarum polysaccharides in the rodent retina after ischemia-reperfusion-induced damage[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e84800. DOI: 10.1371/journal.pone.0084800.

[28] SAXENA P, SELVARAJ K, KHARE S K, et al. Superoxide dismutase as multipotent therapeutic antioxidant enzyme: role in human diseases [J]. Biotechnol Lett, 2022, 44 (1): 1-22. DOI: 10.1007/s10529-021-03200-3.

[29] RUSZKIEWICZ J, ALBRECHT J. Changes of the thioredoxin system, glutathione peroxidase activity and total antioxidant capacity in rat brain cortex during acute liver failure: modulation by L-histidine [J]. Neurochem Res, 2015, 40 (2): 293-300. DOI: 10.1007/s11064-014-1417-9.

[30] 王军，张虹，谢凤杰，等. 甘草酸预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(6)：126-132. DOI：10.13422/j.cnki.syfjx.20180698.

[31] 宋亚男，赵艳，郭向阳. 围术期应激反应监测指标的研究现

状［J］. 中国微创外科杂志，2017，17（12）：1129-1132. DOI：10.3969/j.issn.1009-6604.2017.12.021.

［32］IWAMURA C，NAKAYAMA T. Toll-like receptors in the respiratory system：their roles in inflammation［J］. Curr Allergy Asthma Rep，2008，8（1）：7-13. DOI：10.1007/s11882-008-0003-0.

［33］LI X Y，KIM S E，CHEN T Y，et al. Toll interacting protein protects bronchial epithelial cells from bleomycin-induced apoptosis［J］. FASEB J，2020，34（8）：9884-9898. DOI：10.1096/fj.201902636RR.

［34］NI S Y，ZHONG X L，LI Z H，et al. Puerarin alleviates lipopolysaccharide-induced myocardial fibrosis by inhibiting PARP-1 to prevent HMGB1-mediated TLR4-NF-κB signaling pathway［J］. Cardiovasc Toxicol，2020，20（5）：482-491. DOI：10.1007/s12012-020-09571-9.

（收稿日期：2023-04-03；修回日期：2023-06-29）

（本文编辑：赵跃翠）